日本国特許庁 JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出 願 年 月 日 Date of Application:

2003年12月25日

出願番号

特願2003-430556

Application Number: [ST. 10/C]:

[JP2003-430556]

出 願

人

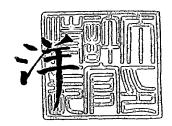
キヤノン株式会社

Applicant(s):

特許庁長官 Commissioner, Japan Patent Office 2005年 2月 3日







特許願 【書類名】 【整理番号】 258681 平成15年12月25日 【提出日】 殿 【あて先】 特許庁長官 C12Q 1/63 【国際特許分類】 【発明者】 東京都大田区下丸子3丁目30番2号 キヤノン株式会社内 【住所又は居所】 【氏名】 塚田 護 【特許出願人】 【識別番号】 000001007 キヤノン株式会社 【氏名又は名称】 【代理人】 100123788 【識別番号】 【弁理士】 宮崎 昭夫 【氏名又は名称】 03-3585-1882 【電話番号】 【選任した代理人】 【識別番号】 100088328 【弁理士】 金田 暢之 【氏名又は名称】 【選任した代理人】 【識別番号】 100106297 【弁理士】 【氏名又は名称】 伊藤 克博 【選任した代理人】 【識別番号】 100106138 【弁理士】 石橋 政幸 【氏名又は名称】 【手数料の表示】 【予納台帳番号】 201087 21,000円 【納付金額】 【提出物件の目録】 特許請求の範囲 1 【物件名】 【物件名】 明細書 1 要約書 1 【物件名】



【請求項1】

検体中に含まれるHLA-C型のアリルの同定に利用し得る多数のプローブからなるプローブセットであって、

前記多数のプローブのそれぞれが、明細書中のアリルリスト中の各アリルの配列中の大 文字で表記された塩基を含む部分配列を有する

ことを特徴とするプローブセット。

【請求項2】

明細書中の表1に記載されるプローブ群、表2に記載されるプローブ群、表3に記載されるプローブ群及び表4に記載されるプローブ群から選ばれた1つのプローブ群からなる請求項1に記載のプローブセット。

【請求項3】

検体からの試料中に含まれるHLA-C型のアリルをプローブセットを用いて同定する 方法であって、

該プローブセットが請求項1または2に記載のプローブセットであることを特徴とする HLA-C型のアリルを同定する方法。

【書類名】明細書

【発明の名称】HLA-Cアレルを同定するためのプローブセット及び特定方法 【技術分野】

[0001]

本発明は、人のHLA-Cアレルを同定するためのプローブセット及び特定方法に関する。 【背景技術】

[0002]

人白血球のHLA-C型の各アレルについては、従来から血清学的レベルのタイピングが行われてきた。この場合、特別なサンプル処理を必要とせず、抗原抗体反応で容易にタイピングが可能である反面、同定できる内容はアミノ酸配列の違いを区別できるレベルを4桁以上の数字での命名法における3、4桁目とした場合、最初の2桁の数字が血清学的レベルのタイピングで同定可能なレベルである(日本組織適合性学会HLA標準化委員会「アリル表記法と結果報告の原則について2000」http://jshi.umin.ac.jp/standarization/hyoki.html参照)。

[0003]

その他のゲノム抽出を伴うタイプの市販キットの多くは、各アレルを個別に同定可能な精度のものではなく、複数のアリルをセットとして区別しているのが現状である。また最も詳細な多型解析を可能とするSBT(Sequencing Based Typing) 法に基づくキットにしても、たいていのサンプルはヘテロ接合体であるため、ambiguityの問題を一度に解決できず、再検査を必要とすることが多い。こうした問題を伴うアレルは、IHWG学会のhttp://www.ihwg.org/protocols/sbt/ambiguities2.pdfにまとめて紹介されている。

【非特許文献1】(日本組織適合性学会HLA標準化委員会「アリル表記法と結果報告の原則について2000」(http://jshi.umin.ac.jp/standarization/hyoki.htmlのサイト)

【非特許文献 2】 http://www.ihwg.org/protocols/sbt/ambiguities2.pdf

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

[0004]

一方、近年は高度医療の発達に伴い、臓器移植などの際に詳細なタイピングが要求されるほか、糖尿病や癌、その他多因子病においても、薬剤投与との関連が示唆され、医療行為に対するエヴィデンスが求められている。こうした背景から、各アリルを個別に同定可能な試験方法が望まれており、本発明はかかる要望に対してHLA-Cの各アリルを個別に同定するために有用であるプローブセット及びそれを用いたHLA-Cのアリルの同定方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

[0005]

本発明にかかるHLA-Cアリルを同定するためのプローブセットは、検体中に含まれるHLA-C型のアリルの同定に利用し得る多数のプローブからなるプローブセットであって、前記多数のプローブのそれぞれが、明細書中のアリルリスト中の各アリルの配列中の大文字で表記された塩基を含む部分配列を有することを特徴とするプローブセットである。

[0006]

また、本発明にかかるHLA-Cアリルの同定方法は、検体からの試料中に含まれるHLA-C型のアリルをプローブセットを用いて同定する方法であって、該プローブセットが上記の構成のプローブセットであることを特徴とするHLA-C型のアリルを同定する方法である。

【発明の効果】

[0007]

本発明にかかるプローブセット及びそれを用いたHLA-Cアレルの同定によって、臓器移植、癌、糖尿病、その他多因子病において必要とされる体質判定、テーラーメイド医療に

貢献することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

[0008]

本発明のプローブセットを構成する各プローブは後述するアレルリストの各アレルにおける大文字表記の塩基を含む部分配列をそれぞれが有するものである。好ましくは、大文字の塩基を含む $10\sim30$ の塩基からなる部分を選択し得られた部分塩基配列からなるプローブを用いてプローブセットを構成する。具体例としては、後述の表 1 及び 2 のプローブリスト 1 及び 2 に挙げられた各プローブ群からプローブセットを構成することができる。例えば、プローブリスト 1 における 0 番のプローブは、Cw*0102の最初の大文字(G)が含まれている部分「acgcatagaccaacaggG」の 1 8 塩基配列からなるものであり、プローブリスト 2 におけるプローブ 0 番もまた同じアリルの最初の大文字のG を含む部分「G tg atg G tg G of G 8 塩基配列からなるものである。

[0009]

なお、後述のアリルリストにおける「Cw*」で示されている番号は、各アリルに付された固有の番号であり、日本組織適合性学会HLA標準化委員会による「アリル表記法」に従ったものである。

[0010]

本発明にかかるアリルの同定方法におけるプローブによるアリルの検出には、例えば、2つの方法が可能である。一つはハイブリダイゼーション法によって検出する場合と、もう一つはPCR法によってハイブリダイゼーションをすることなしに直接検出する場合である。いずれの場合も、好ましくは十数個から二十数個程度の長さのオリゴヌクレオチドに、大文字で表した塩基を含むようにプローブが設計される。

[0011]

また、本発明において提供されるプローブアレイは、各アリルを個別に同定するための変異塩基の組をプローブとして選択する位置で提示しているともいえる。この変異塩基を検出するための方法にもハイブリダイゼーション法による検出方法と、PCR法によってハイブリダイゼーションをすることなしに直接検出する方法が好適に利用できる。これらの場合にも、好ましくは十数個から二十数個程度の長さのオリゴヌクレオチドに、大文字で表した塩基を含むようにプローブが設計される。

[0012]

ハイブリダイゼーションによって変異を検出する場合は、プローブの中心付近にミスマッチが(即ち大文字で表した変異塩基が)来るようにプローブを設計したほうが、フルマッチとミスマッチの配列間でTmに差がつきやすく、ハイブリダイゼーションの反応温度を調節することによって、両者を分離しやすい。

[0013]

一方PCR法によって直接変異を検出する場合は、酵素がアニールした二本鎖を認識して伸長しないよう、むしろ3'末端側にミスマッチを配置することが行われる。またAllel Spcific Primerのように、3'末端から2つ目にミスマッチを配置し、3個目に人為的にミスマッチを追加したり(東洋紡(株))、3'末端側にミスマッチを配置するがライゲーションによって、プローブの環状化を行う方法(アマシャムバイオサイエンス(株))、TaqMan-MGB法(ABI社)LNAを使った3'末端ミスマッチ(プロリゴ・ジャパン(株))など、いくつかのバリエーションが可能である。

[0014]

例えば、Cw*0103の1番目の大文字表記の部分は「gggtatAaccagt」であり、これに対応する同じ血清型のCw*0102の対応する部分は「gggtatgaccagA」であり、これらの部分は2の塩基で変異が生じている。これらの部分の一方の配列からなるプローブを用いれば、他方とはミスマッチによって区別が可能となる。

【実施例】

[0015]

実施例1

アマシャムバイオサイエンスのGFX Genomic Blood DNA Purification Kitを使って、人の血液1mlからDNAの抽出を行った。以下にプロトコールを示す。 血液1ml ↓ + RBC Lysis Solution(溶血) ↓ + 血液サンプル(穏やかに混和) ↓ 室温、5分間 ↓ 12,000~16,000×g、20秒間遠心

↓沈殿物を再懸濁

↓ +Extraction Solution (激しくボルテックス)

↓室温、5分間 (DNAの抽出)

↓Collection TubeにGFX Columnをセット

↓溶出バッファーを70℃に加温

↓上清を20~50 µ1残して捨てる

↓+サンプル

↓5,000×g、1分間遠心(DNAの結合)

↓ +Extraction Solution (洗浄)

↓5,000×g、1分間遠心

↓ + Wash Solution (洗浄)

↓12,000×g、3分間遠心

↓GFX Columnを遠心チューブにセット

↓+純水で溶出

↓室温、1分間

↓5,000~8,000×g、1分間遠心

230μ1に濃縮調整……溶液(1)

次にキアゲン社のQuantiTect SYBR Green PCR Kit、ABI社のGeneAmp5700を使って、定量PCRを行った。反応組成およびプロトコールを以下に示す。

1) 反応組成/well (96wellマイクロプレート)

QuantiTect SYBR Green 2×プレミクス:10μ1

溶液(1):1μ l

表 $1-1\sim 1-4$ の各プローブ: 1μ 1

ミックスプライマ(10 pmol/ μ 1)注) : 4μ 1

超純水:4μ1

(合計: 20μ1)

注)以下の配列を持つ各10 pmol/μ l の水溶液各1μ l

AAACACGGTCACCTCAGGGGGAT (配列番号: 3 4 0)

GGCCTGAGTGTGGTTGGAACG(配列番号:341)

CCAGCTCGTAGTTGTCTGCA (配列番号: 3 4 2)

PCR プログラム

94℃:180secの後に(94℃:10sec+66℃:10sec+72℃:20sec)の30 cyclesを行った。

[0016]

5700ソフトウエア画面上のAmp PlotおよびDissociationカーブ、表 $3-1\sim3-4\sim2$ - 2 のリストを参照して、Cw*120202であると同定された。

[0017]

実施例2

人の血液1mlからのDNA抽出は、実施例1と同様に行った。次にタカラバイオ(株)のExTaq、ABI社のPCR装置9700を使って、人HLA-CのPCRを行った。反応組成およびプロトコールを以下に示す。

1) 反応組成/tube

Ex Tag $2 \times \mathcal{I} \cup \{0.5, 0.5\}$

溶液(1):3μ l

Cy-3 dUTP (1mM): 2μ l

ミックスプライマ(10 pmol/μ l)注) :7μ l

超純水:8μl

(合計: 40 µ 1)

注) 以下の配列を持つ各10 pmol/μ l の水溶液各1μ l

AAACACGCTCACCTCAGGGGGAT (配列番号:340) GGCCTGAGTGTGGTTGGAACG (配列番号:341) CCAGCTCGTAGTTGTCTCCA (配列番号:342)

CCATGTGTCAACTTATGCC (配列番号: 3 4 3) AGAATTACCTTTTCCAG (配列番号: 3 4 4) AGAATTACGTTTTCCAG (配列番号: 3 4 5)

2) PCR プログラム

94℃:180secの後に、 (94℃:10sec+66℃:10sec+72℃ 20sec) の30cyclesを行った。

[0018]

反応終了後、精製用カラム (QIAGEN QIAquick PCR Purification Kit) を用いて未反応のdNTPs等のClean Upを行った。

[0019]

一方上述の検体に対して、アレルを同定するためのDNAマイクロアレイを作製した。作製の方法は、特開平11-187900号公報の実施例に従った。固相化のための官能基はSH基とし、ガラス基板上にシランカップリング処理を行い、2価性試薬のEMCS(N-(6-Maleimidocaproyloxy) succinimide)介してSH基と架橋した。各ドットのプローブには、表 $2-1\sim2-4$ のそれぞれを個々に用いた。

[0020]

次に先ほどの検体と作製したDNAマイクロアレイを用いて、ハイブリダイゼーションを行った。DNAマイクロアレイは予めBSA(牛血清アルブミン)1wt%加PBSで2時間ブロッキングした。検体はその塩濃度がPBSと等しくなるように、また0.1wt%SDS(ドデシル硫酸ナトリウム)、25% Form amideとなるように調整し、その 50μ 1 を、先ほどのブロッキング済みDNAマイクロアレイと60Cで2時間反応させ、未反応物を $2\times$ SSC溶液(NaCl 300mM、Sodium Citrate(trisodium citrate dihyDPate,C6H5Na $3\cdot 2$ H2O)30mM、p.H. 7.0)で3回、続いて $0.1\times$ SSC溶液で2回洗浄した後風乾させ、Axon社製、GenePix 4000Bを用いで蛍光測定を行った。つぎに表 $4-1\sim 4-4$ のリストを参照して、Cw*120202であると同定された。

アレルリスト

Cw*0102:

Cw*0104:

Cw*0105:

Cw*0106:

Cw*0107:

Cw*0108:

Cw*0109:

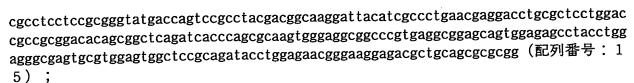
Cw*020201:

Cw*020204:

Cw*020205:

Cw*0203:

4); Cw*0204:



Cw*0205:

Cw*0206:

Cw*030201:

9/



Cw*030401:

Cw*0305:

Cw*0306:

Cw*0307:

Cw*0308:

gtgcgtggagtggctccgcagatacctgaagaatgggaaggagagcgctgcagcgcgggaacaccccaaagacacacgtga cccaccatcccgtctctgaccatgaggccaccctgaggtgctgggccctgggcttctaccctgcggagatcacactgacc tggcagtgggatggggaggaccaaactcaggacacTgagcttgtggagaccaggccagcaggagagaggaaccttccagaa gtgggcagctgtggtggtgccttctggagaaagagcagagatacacgtgccatgtgcagcacgaggggctgccggagcccc tcaccctgagatgggagccgtcttcccagcccaccatccccatcgtgggcatcgttgctggcctggctgtctggctgtc ctagctgtcctaggagctgtggtggctgttgtgatgtgtaggaggaagagctcag (配列番号:28);

Cw*0310:

Cw*0311:

Cw*0312:

Cw*0313:

Cw*0315:

Cw*0316:

Cw*040101:

Cw*0403:

Cw*0405:

1); Cw*0406:

Cw*0407:

Cw*0408:

Cw*0410:

Cw*0501:

7);

Cw*0503:

Cw*0505:

Cw*0506:

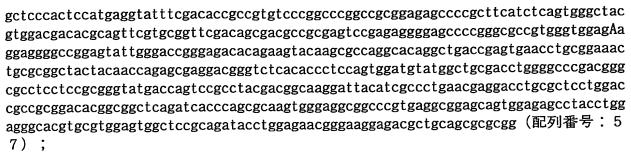
Cw*0602:

atgcgggtcatggcgcccgaaccctcatcctgctgctctcgggagccctggccctgaccgagacctgggcctgctccca ctccatgaggtatttcgacaccgccgtgtcccggccgggcgcgggagagccccgcttcatctcagtgggctacgtggacg acacgcagttcgtgcggttcgacagcgacgccgcgagtccgagggggagccCcgggcgcgtgggtggagcaggagggg ccggagtattgggaccgggagacacagaagtacaagcgccaggcacaggctgaccgagtgaacctgcggaaactgcgcg ctactacaaccagagcgaggacgggtctcacaccctccagtggatgtatggctgcgacctggggcccgacgggcgcctcc tccgcgggtatgaccagtccgcctacgacggcaaggattacatcgccctgaacgaggacctgcgctcctggaccgcgc

Cw*0604 :

Cw*0605:

Cw*0606:



Cw*0608:

Cw*0609:

Cw*070101:

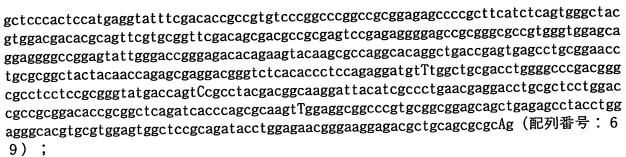
Cw*070102:

Cw*070401:

ggctgcgtgcagcaacagtgcccagggctctgatgagtctctcatcActtgtaa(配列番号:64);Cw*070402:

Cw*0706:

Cw*0708:



Cw*0709:

Cw*0710:

Cw*0711:

Cw*0713:

4); Cw*0714:

Cw*0715:

Cw*0716:

Cw*0717:

Cw*0718:

atgcgggtcatggcgccccgagccctcctcctgctgctctcgggaggcctggccctgaccgagacctgggcctgctccca

Cw*0802:

Cw*0805:

Cw*0806:

Cw*0807:

gctcccactccatgaggtatttctacaccgccgtgtcccggcccggccgcggagagccccgcttcatcgcagtgggctac gtggacgacacgcagttcgtgcagttcgacagcgacgccgcgagtccaagaggggagccgcggggcgcgtggggtgagca ggaggggccggagtattgggaccgggagacacagaagtacaagcgccaggcacagactgaccgagtgagcctgcggaacctgcgcggctactacaaccagagcgaggccgggtctcacaccctccagaggatgtatggctgcgacctggggccgaggccggggccctactacaccagttcgcctacgacggcaaggattacatcgcctgaatgaggacctgcgctcctggac



cgccgcggacaAggcggctcagatcacccagcgcaagtTggaggcggcccgtgaggcggagcagcggagagcctacctggagggcacgtgcgtggagtggctccgcagatacctggagaacgggaagAagacgctgcagcgcggg(配列番号:8 7);

Cw*0808:

ggaggggccggagtattgggaccgggagacacagaagtacaagcgccaggcacagactgaccgagtgagcctgcggaacctgcgcggctactacaaccagagcgaggccgggtctcacaccctccagagCatgtatggctgcgacctggggcccgacgggcgccgcggacacggcggctcagatcacccagcgcaagtgggaggcggcccgtacggcggagcagctgagagcctacctggagggcacgtgcgtggagtggctccgcagatacctggagaacgggaagAagacgctgcagcgcgcgg(配列番号:8 8);

Cw*0809:

atgcgggtcatggcgccccgaaccctcaccctgctgctctcgggagccctggccctgaccgagacctgggcctgctcccaccggagtattgggaccgggagacacagaagtacaagcgccaggcacagactgaccgagtgagcctgcggaacctgcgcgg $\verb|ctactacaaccagaggcggggccgggtctcacaccctccagaggatgtatggctgcgacctggggcccgacgggcgcctcc||$ tccgcgggtatgaccagtccgcctacgacggcaaggattacatcgccctgaatgaggacctgcgctcctggaccgccgcggacacggcggctcagatcacccagcgcaagtgggaggcggcccgtacggcggagcagctgagagcctacctggagggcac cccaccatcccgtctctgaccatgaggccaccctgaggtgctgggcc(配列番号:89);

atgcgggtcatggcgccccgaaccctcatcctgctgctctcgggagccctggccctgaccgagacctgggcctgctccca $\verb|ctccatgaggtatttctacaccgccgtgtcccggccgggagagccccgcttcatcgcagtgggctacgtggacg|\\$ ccggagtattgggaccgggagacacagaagtacaagcgccaggcacaggctgaccgagtgagcctgcggaacctgcgcgg $\verb|ctactacaaccagaggcggggtctcacaccctccagaggatgtaCggctgcgacctggggcccgacgggcgcctcc||$ tccgcgggtatgaccagtccgcctacgacggcaaggattacatcgccctgaacgaggacctgcgctcctggaccgcTgcggacacggcggctcagatcacccagcgcaagtgggaggcggcccgtgaggcggagcagtggagagcctacctggagggcac gtgcgtggagtggctccgcagatacctggagaacgggaaggagacgctgcagcgcgggaacaccccaaagacacacgtga $\tt gtgggcagctgtggtgccttctggagaagagcagagatacacgtgccatgtgcagcacgaggggctgccggagcccc$ t caccet gag at ggg ag c catcet ccca gcc caccat ccc catcgt ggg catcgt t gct ggc t gt cct gg ct gt cct gg ctggctgcgtccagcaacagtgcccagggctctgatgagtctctcatcgcttgtaa(配列番号:90);

Cw*120202:

atgcgggtcatggcgccccgaaccctcatcctgctgctctcgggagccctggccctgaccgagacctgggcctgctccca ccggagtattgggaccgggagacacagaagtacaagcgccaggcacaggctgaccgagtgagcctgcggaacctgcgcgg $\verb|ctactacaaccagaggcggggccgggtctcacaccctccagaggatgtaCggctgcgacctggggcccgacgggcgcctcc||$ tccgcgggtatgaccagtccgcctacgacggcaaggattacatcgccctgaacgaggacctgcgctcctggaccgcTgcggacacggcggctcagatcacccagcgcaagtgggaggcggcccgtgaggcggagcagtggagagcctacctggagggcac cccaccatcccgtctctgaccatgaggccaccctgaggtgctgggccctgggcttctaccctgcggagatcacactgacctggcagcgggatggcgaggaccaaactcaggacaccgagcttgtggagaccaggccagcaggagatggaaccttccagaa $\tt gtgggcagctgtggtggtgccttctggagaagagcagagatacacgtgccatgtgcagcacgaggggctgccAgagcccc$

Cw*120301:

Cw*120302:
gctcccactccatgaggtatttctacaccgccgtgtcccggcccggcgcgggagagccccgcttcatcgcagtgggctac
gtggacgacacgcagttcgtgcggttcgacagcgacgccgcgagtccaagaggggagccgcggggcgcgtggggggagca
ggaggggccggagtattgggaccgggagacacagaagtacaagcgccaggcacaggctgaccgagtgagcctgcggaacc
tgcgcggctactacaaccagagcgaggccgggtctcacaccctccagtggatgtatggctgcacctggggcccgacggg
cgcctcctccgcgggtatgaccagtccgcctacgacggcaaggattacatcgccctgaacgaggacctgcgctcctggac
cgcGgcggacacggcggctcagatcacccagcgcaagtgggaggcggcccgtgaggcggagcagTggagagcctacctgg
agggcacgtgcgtggagtggctccgcagatacctggagaacgggaaggagaggcgcgcggg (配列番号:9

Cw*120401:

C=+120402 1



Cw*1206:

Cw*1207:

Cw*1208:

Cw*1403:

Cw*1405:

Cw*150201:

Cw*1503:

Cw*1507:

13);

Cw*1508:

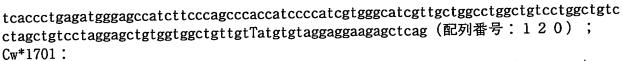
1 4); Cw*1509:

15); Cw*1510:

16);

Cw*1511:

Cw*1602:



Cw*1703:

以下、プローブリスト1及び2を表1及び2のそれぞれに示す

[0021]

【表1】

表1-1	
プローブ番号	塩基配列
0	c acc ctc cag tgg atg tG(配列番号:126)
1	c cgc ggg tat gac cag tA(配列番号:127)
2	g acc gcc gcg gac acC (配列番号:1.2.8)
3	ag aag tgg gca gct gtg A(配列番号:129)
4	c ctc ctc cgc ggg tat A (配列番号:130)
5	g cgc tcc tgg acc gcT (配列番号:131)
6	g cac gag ggg ctg ccA (配列番号:132)
7	ct gtc cta gga gct gtg A (配列番号:1 3 3)
8	c acc ctc cag agg atg tC(配列番号:134)
9	gg gag gcg gcc cgt gT (配列番号:1 3 5)
10	ggg cgc ctc ctc cgc A(配列番号:136)
11	c aag tgg gag gcg gcc T (配列番号:137)
12	c cgt gag gcg gag cag T (配列番号:138)
13	a gtg aac ctg cgg aaa ctA (配列番号:139)
14	cc ctg ggc ttc tac cct A (配列番号:140)
15	g acc gcc gcg gac acA (配列番号:141)
16	gct gtg tcc cgg ccc A (配列番号:142)
17	g acc gcc gcg gac acG (配列番号:143)
18	cc ctg aga tgg gag ccA (配列番号:1 4 4)
19	gg tct cac acc ctc cag A (配列番号:1 4 5)
20	cgc ggg tat gac cag tC(配列番号:146)
21	gcc tac ctg gag ggc gA(配列番号:1 4 7)
22	c tcc cac tcc atg agg tG(配列番号:1 4 8)
23	cgc ggg cat gac cag ttA (配列番号:1 4 9)
24	g gac caa act cag gac acT (配列番号:150)
25	c aac cag agc gag gcc A (配列番号:151)
26	ag gcc agg tct cac atc A(配列番号:152)
27	g aag tgg gca gct gtg G (配列番号:153)
28	gcg gac acg gcg gcC(配列番号:154)
29	at ggc tgc gac gtg ggA (配列番号:155)
30	g gcc ggg tct cac atc A(配列番号:156)

[0022]

【表2】

表1-2	
プローブ番号	塩基配列
31	c atc atc cag agg atg taC (配列番号:157)
32	c cgc aga tac ctg aag aaT (配列番号:158)
33	ct cac acc ctc cag agC(配列番号:159)
34	ctc ctc cgc ggg tat gT(配列番号:1 6 0)
35	ca cag act gac cga gtg aA (配列番号:161)
36	cga gtg aac ctg cgg aaA (配列番号:1 6 2)
37	gg atg tat ggc tgc gac G (配列番号:163)
38	gcc tac ctg gag ggc cT (配列番号:164)
39	gac cgg gag aca cag aaC (配列番号: 1 6 5)
40	g gag ccc cac ttc atc G (配列番号:166)
41	cga gtg agc ctg cgg aaA (配列番号: 167)
42	cgc ggg tat gac cag ttA (配列番号: 168)
43	g gag gcg gcc cgt gC (配列番号: 1 6 9)
44	c tac aac cag agc gag gA (配列番号: 1 7 0)
45	cgt gag gcg gag cag cT (配列番号: 1 7 1)
46	cta gct gtc cta gga gct A (配列番号: 1 7 2)
47	ggc tac gtg gac gac acA (配列番号: 1 7 3)
48	gc cgc gga gag ccc cA (配列番号: 1 7 4)
49	g aga tac acg tgc cat gtT (配列番号: 1 7 5)
50	ga ggg gag ccg cgg gA (配列番号: 1 7 6)
51	c atc gca gtg ggc tac C (配列番号: 177)
52	c tgc gac ctg ggg ccG (配列番号: 1 7 8)
53	tc tcc aca tcc gtg tcc T (配列番号: 1 7 9)
54	c aag cgc cag gca cag G (配列番号: 180)
55	gg acc gcc gcg gac aA (配列番号: 181)
56	ctc acc ctg aga tgg gG (配列番号: 182)
57	tg tgc gtg gag tgg ctG (配列番号: 183)
58	cc att tet gac cat gag gT (配列番号: 184)
59	ac ctg gag aac ggg aag A (配列番号: 185)
60	c cgc ggg tat aac cag tT (配列番号:186)

[0023]

【表3】

	
表 1 - 3	ic # 파고
プローブ番号	塩基配列
61	g gag ccg cgg gcg cG (配列番号:187)
62	t ccg aga ggg gag ccC (配列番号:188)
63	g agg tat ttc tac acc gcT (配列番号:189)
64	c gac gcc gcg agt ccA (配列番号:190)
65	gt cca aga ggg gag ccC(配列番号:191)
66	gcg ccg tgg gtg gag A(配列番号:192)
67	c acc ctc cag agg atg tA (配列番号:193)
68	g atc acc cag cgc aag tT(配列番号:1 9 4)
69	g acg ctg cag cgc gcA (配列番号:195)
70	c tct gat gag tct ctc atc A (配列番号:196)
71	gag cca tct tcc cag ccT (配列番号:197)
72	ga gcc tac ctg gag ggA (配列番号:198)
73	t gcg gcg gag cag gaC (配列番号:199)
74	aac ctg cgc ggc tac taT (配列番号:200)
75	g tct cac acc ctc cag aaT (配列番号:201)
76	a gct gtg gtc acc gct aA (配列番号:202)
77	c acc ctc cag agg atg tT (配列番号:203)
78	ag gac ggg tct cac atc A (配列番号:204)
79	ac atc atc cag agg atg tC(配列番号:205)
80	tgc tct cag gct gcg tG(配列番号:206)
81	c cgc ggg tat gac cag tT (配列番号:207)
82	g gag acg ctg cag cgc A (配列番号:208)
83	g ccc ctc acc ctg agC(配列番号:209)
84	ggg agc tgc tct cag gT (配列番号:210)
85	cgt acg gcg gag cag cT(配列番号:211)
86	acc ctc cag agg atg taC (配列番号:212)
87	tgg gag gcg gcc cgt A (配列番号:213)
88	cgc aga tac ctg gag aac A (配列番号:214)
89	gcc_tac ctg gag ggc G (配列番号:215)
90	ga tac ctg gag aac ggg G (配列番号:216)

[0024]

【表4】

表1-4	
プローブ番号	塩基配列
91	ac ctg cgc tcc tgg acT(配列番号:217)
92	g cgc tcc tgg acc gcG(配列番号:218)
93	a gag ccc cgc ttc atc G(配列番号:219)
94	c acc ctc cag tgg atg tA(配列番号:220)
95	cag tcc gcc tac gac gT (配列番号:221)
96	a cag gct gac cga gtg G (配列番号:222)
97	cac tcc atg agg tat ttc tC (配列番号:223)
98	c acc ctc cag tgg atg tT(配列番号:224)
99	a cag gct gac cga gtg aA(配列番号:225)
100	atc gcc ctg aac gag gaT (配列番号:226)
101	gc ctc ctc cgc ggg C (配列番号:227)
102	tc atg gcg ccc cga acT (配列番号:228)
103	cgc ggg cat gac cag tT (配列番号:229)
104	cgc ggg cat gac cag tC(配列番号:230)
105	gt gcg gcg gag cag cA(配列番号:231)
106	gct gtg gtg gct gtt gtT (配列番号:232)
107	cgt gcg gcg gag cag T (配列番号:233)
108	tg gtc gct gct gtg ata C (配列番号:234)
109	gg ctg cag gag ccc tG(配列番号:235)
110	cc ctg atc gag acc tgg A (配列番号:236)
111	cc ctc acc ctg aga tgg A (配列番号:237)
112	ggc ctg gct gtc ctg gT (配列番号:238)

[0025]

【表 5】

表 2 - 1	
プローブ番号	塩基配列
0	g tgg atg tGt ggc tgc g(配列番号:239)
1	at gac cag tAc gcc tac g(配列番号:240)
2	gcg gac acC gcg gct c(配列番号:241)
3	gca gct gtg Atg gtg cct (配列番号:242)
4	cgc ggg tat Aac cag ttc (配列番号:243)
5	tgg acc gcT gcg gac ac (配列番号:244)
6	ggg ctg ccA gag ccc c(配列番号:245)
7	gga gct gtg Atg gct gtt (配列番号:246)
8	g agg atg tCt ggc tgc g(配列番号:247)
9	g gcc cgt gTg gcg gag (配列番号:248)
10	ctc ctc cgc Agg tat gac (配列番号:249)
11	g gcg gcc Tgt gag gcg (配列番号:250)
12	cg gag cag Tgg aga gcc (配列番号:251)
13	g cgg aaa ctA cgc ggc ta (配列番号:252)
14	ttc tac cct Acg gag atc a (配列番号:253)
15	gcg gac acA gcg gct c(配列番号:254)
16	c cgg ccc Agc cgc gg(配列番号:255)
17	gcg gac acG gcg gct c (配列番号:256)
18	a tgg gag ccA tct tcc ca (配列番号:257)
19	acc ctc cag Agg atg tat g (配列番号:258)
20	t gac cag tCc gcc tac g(配列番号:259)
21	g gag ggc gAg tgc gtg (配列番号:260)
22	cc atg agg tGt ttc tac ac (配列番号:261)
23	t gac cag ttA gcc tac gac(配列番号:262)
24	t cag gac acT gag ctt gtg (配列番号:263)
25	gc gag gcc Agg tct cac(配列番号:264)
26	tct cac atc Atc cag agg a (配列番号:265)
27	ca gct gtg Gtg gtg cct (配列番号:266)
28	acg gcg gcC cag atc ac (配列番号:267)
29	gac gtg ggA ccc gac g(配列番号:268)
30	g agg atg taC ggc tgc ga (配列番号:269)

[0026]

【表 6】

表 2 - 2	
プローブ番号	塩基配列
31	c ctg aag aaT ggg aag gag(配列番号:270)
32	c ctc cag agC atg tac gg(配列番号:271)
33	gc ggg tat gTc cag tac g (配列番号:272)
34	c cga gtg aAc ctg cgg a (配列番号:273)
35	ctg cgg aaA ctg cgc gg (配列番号:274)
36	c tgc gac Gtg ggg ccc (配列番号:275)
37	g gag ggc cTg tgc gtg (配列番号:276)
38	g aca cag aaC tac aag cgc(配列番号:277)
39	cac ttc atc Gca gtg ggc (配列番号:278)
40	gcc cgt gCg gcg gag(配列番号:279)
41	g agc gag gAc ggg tct c (配列番号:280)
42	g gag cag cTg aga gcc t (配列番号:281)
43	cta gga gct Atg gtg gct (配列番号:282)
44	g gac gac acA cag ttc gt (配列番号:283)
45	ga gag ccc cAc ttc atc g(配列番号:284)
46	g tgc cat gtT cag cac ga (配列番号: 285)
47	ccg cgg gAg ccg tgg(配列番号: 286)
48	tg ggc tac Ctg gac gac (配列番号: 287)
49	ctg ggg ccG gac ggg (配列番号:288)
50	c gtg tcc Tgg ccc ggc (配列番号: 289)
51	ag gca cag Gct gac cga (配列番号: 290)
52	c gcg gac aAg gcg gct (配列番号: 291)
53	tg aga tgg gGg cca tct t (配列番号: 292)
54	g gag tgg ctG cgc aga ta (配列番号: 293)
55	ac cat gag gTc acc ctg a (配列番号: 294)
56	aac ggg aag Aag acg ctg (配列番号: 295)
57	at aac cag tTc gcc tac ga (配列番号: 296)
58	cgg gcg cGg tgg gtg (配列番号: 297)
59	ggg gag ccC cgg gcg (配列番号: 298)
60	tac acc gcT gtg tcc cg(配列番号:299)

[0027]

【表7】

表 2 - 3	
プローブ番号	塩基配列
61	gcg agt ccA aga ggg ga (配列番号:300)
62	gg gtg gag Aag gag ggg (配列番号:301)
63	ag agg atg tAt ggc tgc g (配列番号:302)
64	g cgc aag tTg gag gcg g(配列番号:303)
65	cag cgc gcA gaa ccc c (配列番号:304)
66	g gct gcg tGc agc aac a (配列番号:305)
67	tcc cag ccT acc atc cc (配列番号:306)
68	ctg gag ggA ctg tgc gt (配列番号:307)
69	g gag cag gaC aga gcc ta (配列番号:308)
70	c ggc tac taT aac cag agc (配列番号: 309)
71	c ctc cag aaT atg tat ggc (配列番号:310)
72	tc acc gct aAg atg tgt ag (配列番号:311)
73	ag agg atg tTt ggc tgc g (配列番号: 3 1 2)
74	at gac cag tTc gcc tac g (配列番号: 3 1 3)
75	ggg ctg caA gag ccc c (配列番号: 3 1 4)
76	gc tct cag gTt gcg tgc a (配列番号: 3 1 5)
77	g gcc cgt Acg gcg gag (配列番号: 3 1 6)
78	ctg gag aac Agg aag aag a (配列番号: 317)
79	g gag ggc Gcg tgc gtg (配列番号: 318)
80	c ctc cag agC atg tat gg (配列番号: 319)
81	gag aac ggg Gag aag acg (配列番号: 320)
82	tcc tgg acT gcc gcg g (配列番号: 321)
83	tgg acc gcG gcg gac a (配列番号:322) gc ttc atc Gca gtg ggc (配列番号:323)
84	_
85	ag tgg atg tAt ggc tgc g (配列番号: 324)
86	cc tac gac gTc aag gat ta (配列番号: 325)
87	c cga gtg Ggc ctg cgg (配列番号:326)
88	gg tat ttc tCc aca tcc gt (配列番号:327) ag tgg atg tTt ggc tgc g (配列番号:328)
89	
90	g aac gag gaT ctg cgc tc (配列番号:329)

[0028]

【表8】

:	表 2 - 4				
	プローブ番号	塩基配列			
	91	c cgc ggg Cat gac cag (配列番号:	3	3	0)
	92	ccc cga acT ctc ctc ct(配列番号:	3	3	1)
	93	c cgc ggg Cat gac cag(配列番号:	3	3	2)
	94	g gag cag cAg aga gcc t (配列番号:	: 3	3	3)
	95	g gct gtt gtT atg tgt agg (配列番号:	: 3	3	4)
	96	t gtg gtc gcT gct gtg at (配列番号:	: 3	3	5)
	97	g gag ccc tGc acc ctg (配列番号:	: 3	3	6)
	98	g acc tgg Acc ggc tcc (配列番号:	: 3	3	7)
	99	ctg aga tgg Aag ccg tct (配列番号	: 3	3	8)
	100	ct gtc ctg gTt gtc cta g (配列番号	: 3	3	9)

【0029】 以下に、アリループローブ対応リスト1及び2を表3及び4に示す。 【0030】

【表 9】

表3-1						
アリル番号	検出用(カプロ-	-ブ番号			
Cw*0102	0	1	2	3		
Cw*0103	4					
Cw*0104	5	6	7			
Cw*0105	8					
Cw*0106	9					
Cw*0107	10					
Cw*0108	11					
Cw*0109	12					
Cw*020201	13					
Cw*020202	14					
Cw*020203	15	12				
Cw*020204	16	17	18			
Cw*020205	16	19	20	17	12	21
Cw*0203	9	21				
Cw*0204	22					
Cw*0205	16	20	17	12	21	
Cw*0206	23	21				
Cw*030201	24	18				
Cw*030202	20	24				
Cw*030301	25	26	27			
Cw*030302	28					
Cw*030303	29					
Cw*030401	30	24				
Cw*030402	30	31	32			
Cw*0305	33	32				
Cw*0306	34					
Cw*0307	35	36	30	37	38	32
Cw*0308	39	30	24			
Cw*0309	40	30	38	32		
Cw*0310	41	30	37	38	32	
Cw*0311	25	26				

[0031]

【表10】

表 3 - 2					
アリル番号	検出用	のプロー	-ブ番号		
Cw*0312	25	42			
Cw*0313	25	27			
Cw*0314	43	32			
Cw*0315	44	20	38	32	
Cw*0316	37	20	17	45	
Cw*040101	46				
Cw*040102	47				
Cw*0403	48	49			
Cw*0404	50	45			
Cw*0405	51				
Cw*0406	48	52	45		
Cw*0407	53	54			
Cw*0408	50	38			
Cw*0410	50				
Cw*0501	36	55	56		
Cw*0502	57				
Cw*0503	58				
Cw*0504	20	55	59		
Cw*0505	37	60	55	59	
Cw*0506	61				
Cw*0602	62	12	7		
Cw*0603	63	62	20	12	
Cw*0604	62	45			
Cw*0605	64	65	20	17	
Cw*0606	62	7			
Cw*0607	66				
Cw*0608	44	20	17	12	- 21
Cw*0609	62	60	12		
Cw*070101	67	68	69	70	
Cw*070102	71				

[0032]

【表11】

表 3 - 3						
アリル番号	検出用	のプロ-	-ブ番号			
Cw*070201	8	68	70			
Cw*0703	72					
Cw*070401	73	70				
Cw*070402	74					
Cw*0705	75					
Cw*0706	76					
Cw*0707	36	67	20	68	69	
Cw*0708	77	20	68	69		
Cw*0709	36	44	67	20	68	69
Cw*0710	78	79	20	68	69	
Cw*0711	73	80				
Cw*0712	73					
Cw*0713	8	81	68	69		
Cw*0714	82					
Cw*0715	8	21	69			
Cw*0716	39	67	20	68	69	
Cw*0717	8	83				
Cw*0718	84					
Cw*080101	85	56				
Cw*080102	86	60	87			
Cw*0802	55	56				
Cw*0803	88	7				
Cw*0804	55	45	59			
Cw*0805	54	60	55	59		
Cw*0806	89	88				
Cw*0807	55	68	59			
Cw*0808	33	59				
Cw*0809	90					
Cw*120201	86	5	7			
Cw*120202	86	5	6	7		
Cw*120203	67	5				
Cw*120301	54	91	7			•

[0033]



表3-4							
アリル番号	検出用	のプロ-	- ブ番号	•			
Cw*120302	92	12					
Cw*120401	93	54	36	94	20	17	12
Cw*120402	54	36	91	7			
Cw*1205	36	91	7				
Cw*1206	95						
Cw*1207	96						
Cw*1208	39	86	5	6	7		
Cw*140201	97	2 0	27				
Cw*140202	97	98	20				
Cw*1403	97	64	20	27			
Cw*1404	97	99	98	20	100		
Cw*1405	97	94	20	100			
Cw*150201	23	7					
Cw*150202	48	39	36	101	23	45	
Cw*1503	54	23	7				
Cw*1504	20	45	7				
Cw*150501	102						
Cw*150502	101	103	7				
Cw*1506	101	7					
Cw*1507	48	39	101	23	45		
Cw*1508	48	39	36	30	101	23	
Cw*1509	101	104	45				
Cw*1510	39	36	101	23	45		
Cw*1511	16	48	36	101	23	45	
Cw*1601	105	106					•
Cw*1602	36	105	106				
Cw*160401	107	106					
Cw*1701	108						
Cw*1702	109						
Cw*1703	110						
Cw*1801	111	112					
Cw*1802	62	100	111				

[0034]

【表13】

表4-1						
アリル番号	検出用	のプロ-	-ブ番号			
Cw*0102	0	1	2	3		
Cw*0103	4					
Cw*0104	5	6	7			
Cw*0105	8					
Cw*0106	9					
Cw*0107	10					
Cw*0108	11					
Cw*0109	12					
Cw*020201	13					
Cw*020202	14					
Cw*020203	15	12				
Cw*020204	16	17	18			
Cw*020205	16	19	20	17	12	21
Cw*0203	9	21				
Cw*0204	22					
Cw*0205	16	20	17	12	21	
Cw*0206	23	21				
Cw*030201	24	18				
Cw*030202	20	24				
Cw*030301	25	26	27			
Cw*030302	28					
Cw*030303	29					
Cw*030401	26	24				
Cw*030402	26	30	31			
Cw*0305	32	31				
Cw*0306	33					
Cw*0307	34	35	26	36	37	31
Cw*0308	38	26	24			
Cw*0309	39	26	37	31		
Cw*0310	35	26	36	37	31	
Cw*0311	25	26				

[0035]

【表14】

表4-2					
アリル番号	検出用	のプロ-	- ブ番号	-	
Cw*0312	25	23			
Cw*0313	25	27			
Cw*0314	40	31			
Cw*0315	41	20	37	31	
Cw*0316	36	20	17	42	
Cw*040101	43				
Cw*040102	44				
Cw*0403	45	46			
Cw*0404	47	42			
Cw*0405	48				
Cw*0406	45	49	42		
Cw*0407	50	51			
Cw*0408	47	37			
Cw*0410	47				
Cw*0501	35	52	53		
Cw*0502	54				
Cw*0503	55				
Cw*0504	20	52	56		
Cw*0505	36	57	52	56	
Cw*0506	58				
Cw*0602	59	12	7		
Cw*0603	60	59	20	12	
Cw*0604	59	42			
Cw*0605	61	59	20	17	
Cw*0606	59	7			
Cw*0607	62				
Cw*0608	41	_20.	17	12	21
Cw*0609	59	57	12		
Cw*070101	63	64	65	66	
Cw*070102	67				
Cw*070201	8	64	66		

[0036]



表 4 - 3					
アリル番号	検出用	ラ のプロ	ーブ番号	1	
Cw*0703	68				
Cw*070401	69	66			
Cw*070402	~ 70				
Cw*0705	71				
Cw*0706	72				
Cw*0707	38	35	40	42	
Cw*0708	73	40	42		
Cw*0709	38	35	41	40	42
Cw*0710	26	8	20	64	42
Cw*0711	69	66			
Cw*0712	69				
Cw*0713	8	74	64	42	
Cw*0714	30	64	40	42	
Cw*0715	8	21			
Cw*0716	38	40	42		
Cw*0717	8	75			
Cw*0718	76				
Cw*080101	42	53			
Cw*080102	30	57	77		
Cw*0802	52	53			
Cw*0803	78	7			
Cw*0804	52	42	56		
Cw*0805	51	57	52	56	
Cw*0806	79	78			
Cw*0807	52	64	56		
Cw*0808	80	56			
Cw*0809	81				
Cw*120201	30	5	7		
Cw*120202	3.0	5	6	7	
Cw*120203	63	5			
Cw*120301	51	82	7		

[0037]



表4-4							
アリル番号	検出月	月のプロ・	ーブ番号	}			
Cw*120302	83	12					
Cw*120401	84	51	35	85	20	17	12
Cw*120402	51	35	82	7			
Cw*1205	35	82	7				
Cw*1206	86						
Cw*1207	87						
Cw*1208	38	30	5	6	7	-	
Cw*140201	88	20	27				
Cw*140202	88	89	20				
Cw*1403	88	61	20	27			
Cw*1404	88	34	89	20	90		
Cw*1405	88	85	20	90			
Cw*150201	23	7					
Cw * 150202	45	38	35	91	23	42	
Cw*1503	51	23	7				
Cw*1504	20	42	7				
Cw*150501	92						
Cw*150502	91	74	7				
Cw*1506	91	7					
Cw*1507	45	38	91	23	42		
Cw*1508	45	38	35	26	91	23	
Cw*1509	91	20	42				
Cw*1510	38	35	91	23	42		
Cw*1511	16	45	35	91	23	42	
Cw*1601	94	95					
Cw*1602	35	94	95				
Cw*160401	12	95					
Cw*1701	96						
Cw*1702	97						
Cw*1703	98						
Cw*1801	99	100					
Cw*1802	59	90	99				



【要約】

【課題】HLA-Cの各アリルを個別に同定するために有用であるプローブセット及びそれを用いたHLA-Cのアリルの同定方法を提供すること。

【解決手段】HLA-Cの各アリルに特有の塩基を含む部分配列のすべてを網羅するプローブからプローブセットを構成し、これを用いて検体に含まれるHLA-Cを同定する。

【選択図】 なし

特願2003-430556

出願人履歴情報

識別番号

[000001007]

1. 変更年月日

1990年 8月30日

[変更理由]

新規登録

住 所

東京都大田区下丸子3丁目30番2号

キヤノン株式会社 氏 名

Document made available under the **Patent Cooperation Treaty (PCT)**

International application number: PCT/JP04/019763

International filing date:

24 December 2004 (24.12.2004)

Document type:

Certified copy of priority document

Document details:

Country/Office: JP

Number:

2003-430556

Filing date: 25 December 2003 (25.12.2003)

Date of receipt at the International Bureau: 17 February 2005 (17.02.2005)

Remark:

Priority document submitted or transmitted to the International Bureau in

compliance with Rule 17.1(a) or (b)

